



Penetapan Kadar Kurkuminoid Dalam Ekstrak Campuran *Curcuma domestica* Val. dan *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Sebagai Bahan Baku Jamu Sainifik Secara KLT-Densitometri

Reine Risa Risthanti^{*1}, Ririn Sumiyani¹, Devyani Diah Wulansari¹, Tita Juli Anawati¹

¹ Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia

INFO ARTIKEL

Sejarah artikel:

Penerimaan
naskah: 31
Oktober 2019
Penerimaan
naskah revisi: 29
November 2019
Disetujui untuk
dipublikasikan: 31
Januari 2020

Kata kunci :

Sainifikasi
jamu,
antihiperurisemia,
kurkuminoid,
KLT-
Densitometri

ABSTRAK

Terapi alternatif menggunakan bahan alam semakin diminati oleh masyarakat belakangan ini. Salah satu terapi alternative yang digemari adalah jamu. Penggunaan jamu sebagai terapi alternative perlu dibuktikan secara ilmiah melalui proses saintifikasi jamu. Jamu saintifik merupakan terobosan yang diharapkan dapat digunakan dalam pelayanan kesehatan sebagai terapi alternatif. Kontrol kualitas pada jamu perlu dilakukan untuk menjamin efektivitas dan keamanannya. Pada penelitian ini akan dilakukan kontrol kualitas pada bahan baku formula jamu antihiperurisemia yaitu ekstrak campuran kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Tujuan penelitian ini untuk menetapkan kadar kurkuminoid dalam ekstrak campuran kunyit dan temulawak sebagai bahan baku jamu saintifik antihiperurisemia secara KLT-densitometri. Ekstrak campuran kunyit dan temulawak diperoleh melalui proses ekstraksi dengan metode *Ultrasonic-assisted extraction* (UAE) dengan pelarut etanol p.a. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F254 nm dan fase gerak yang digunakan adalah kloroform-metanol (9:1). Berdasarkan hasil validasi metode, kurkumin dapat terpisah dengan baik dari kurkuminoid dengan nilai $R_s = 2$ dan koefisien korelasi kurva baku pada rentang kadar 10-800 ppm adalah $r = 0,9803$. Metode ini juga menghasilkan presisi dan akurasi yang baik yaitu $RSD = 4,55\%$ untuk presisi dan $89,00\% - 97,35\%$ untuk akurasi, sesuai dengan yang dipersyaratkan oleh AOAC. Sensitivitas yang dihasilkan adalah 4,31 ppm untuk LOD dan 14,37 ppm untuk LOQ. Hasil penetapan kadar kurkuminoid diperoleh kadar kurkuminoid rata-rata pada sampel 1a, 1b, dan 1c berturut-turut adalah 9,83%, 9,92% dan 10,72%.

DETERMINATION OF CURCUMINOID FROM A MIXED EXTRACT *Curcuma domestica* Val. dan *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. AS A RAW MATERIAL FOR SAINTIFYING HERBAL MEDICINE BY TLC-DENSITOMETRY

Keywords:

scientific herbal
medicine,
antihyperuricemia,
curcumin, TLC-
densitometry

ABSTRACT

Herbal medicine is one of the complementary and alternative medicine that significantly increase during last year. The use of herbal medicine as an alternative therapy needs to be scientifically proven. Scientifying herbal medicine is a breakthrough that is expected to be used in health services as an alternative therapy. Quality control on herbal medicine is required to ensure its effectiveness and safety. In this study quality control will be carried out on the raw material of the antihyperuricemia herbal formula, which is a mixture of turmeric (*Curcuma domestica* Val.) and temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). The purpose of this study was to determine curcuminoid in a mixture of turmeric and temulawak as a raw material for scientific antihyperuricemia herbal medicine by TLC-densitometry. Turmeric and temulawak mixture extracts were obtained through an extraction process with the Ultrasonic-assisted extraction (UAE) method with ethanol solvent. The stationary phase used was silica gel 60 F254 nm and the mobile phase used was chloroform-methanol (9:1). Based on the results of the method validation, curcumin can be well separated from curcuminoids with a value of $R_s \geq 2$ and the standard curve linearity in the range of 10-800 ppm is $r = 0.9803$. This method also produces good precision and accuracy ($RSD = 4.55\%$ for precision and $89.00\% - 97.35\%$ for accuracy). The resulting sensitivity was 4.31 ppm for LOD and 14.37 ppm for LOQ. The results of the determination of curcuminoid obtained average curcumin levels in samples 1a, 1b, and 1c were 9.83%, 9.92% and 10.72%, respectively.

* Corresponding author: Reine Risa Risthanti, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Jalan Raya Kalirungkut Surabaya. E-mail: reineristhanti@staff.ubaya.ac.id

1. Pendahuluan

Dewasa ini, terapi alternative menggunakan bahan alam semakin diminati oleh masyarakat luas. Salah satu terapi alternative yang digemari masyarakat adalah jamu. Jamu telah dikenal sejak dahulu sebagai obat tradisional Indonesia. Hasil Riset Kesehatan Dasar 2010 menunjukkan bahwa penduduk Indonesia yang mengkonsumsi jamu sebesar 95,60% telah merasakan manfaatnya pada semua kelompok umur dan status ekonomi, baik di pedesaan maupun diperkotaan¹.

Berdasarkan Permenkes Nomor 6 tahun 2016 tentang Formularium Obat Herbal Asli Indonesia definisi jamu adalah sediaan obat bahan alam, status keamanan dan khasiatnya dibuktikan secara empiris. Penggunaan jamu sebagai terapi alternative perlu dijamin efektivitas dan keamanannya sehingga diperlukan langkah dan upaya untuk mengontrol kualitas jamu. Hal tersebut perlu diperkuat dengan adanya data dan informasi ilmiah tentang jamu terutama formula jamu².

Saintifikasi jamu merupakan salah satu upaya pemerintah Indonesia untuk membuktikan jamu secara ilmiah melalui penelitian berbasis pelayanan kesehatan yang bertujuan sebagai landasan ilmiah (*evidence based*) penggunaan jamu³. Jamu saintifik yang dihasilkan dapat digunakan untuk terapi komplementer di fasilitas pelayanan kesehatan dan dapat dijadikan pilihan bagi masyarakat sebagai upaya dari pengobatan secara preventif, promotif, kuratif, rehabilitatif dan paliatif. Salah satu jamu saintifik yang telah tersedia saat ini adalah formula jamu untuk antihiperurisemia. Beberapa tumbuhan yang diketahui memiliki aktivitas antihiperurisemia antara lain daun kepal, kayu secang, daun tempuyung, rimpang temu lawak, rimpang kunyit dan meniran².

Produk jamu saintifik harus memenuhi kriteria aman, berkhasiat dan memenuhi persyaratan mutu. Kontrol kualitas bahan baku jamu diperlukan untuk menjamin keamanan, efektivitas, dan mutu produk jamu. Pada produk herbal, kontrol kualitas lebih sulit karena komponen kimia yang terkandung di dalamnya sangat kompleks. Apabila ada sebagian komponen kimia yang hilang selama proses produksi, dapat menyebabkan hilangnya aktivitas farmakologi dalam tanaman obat tersebut. Oleh karena itu, perlu dilakukan kontrol kualitas ekstrak sebagai bahan baku jamu secara kualitatif maupun kuantitatif.

2. Beberapa penelitian telah melaporkan pemisahan kurkuminoid dengan metode berbasis kromatografi yaitu KLT, HPTLC dan kromatografi kolom. Berdasarkan penelitian Pothitirat dan Gritsanapan (2005) menunjukkan hasil kromatogram KLT-densitometer ekstrak kurkuminoid terlihat puncak utama merupakan kurkumin, sedangkan dua puncak yang lain adalah demetoksi demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform : benzene : methanol (80 : 15 : 5) dan nilai rf yang dihasilkan adalah 0,69 ; 0,51 dan 0,39 untuk kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin⁴. Pada penelitian yang lain menyebutkan bahwa, metode HPTLC telah dikembangkan untuk determinasi kurkuminoid secara simultan dalam ekstrak kunyit dengan fase gerak kloroform : metanol (95 :

5) dan Rf yang dihasilkan adalah 0,69 ; 0,44 dan 0,29 untuk kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin⁵.

Pada penelitian yang lain melaporkan bahwa penelitian mengenai sidik jari dengan metode KLT Densitometri pada ekstrak kunyit, temulawak dan bangle dapat digunakan untuk tujuan identifikasi dan otentikasi oleh otoritas pengawas atau industri jamu untuk mencegah pemalsuan dalam obat-obatan herbal⁶. Penelitian yang telah dilakukan Hanwar dkk (2018) juga melaporkan bahwa metode KLT Densitometri valid untuk penetapan kadar kurkuminoid pada produk obat herbal berbasis *Curcuma sp* karena memenuhi syarat parameter akurasi, keterulangan dan presisi antara⁷. Pada jurnal yang lain juga disebutkan bahwa metode KLT dapat digunakan sebagai salah satu teknik kontrol kualitas *Curcuma rhizome*⁸ dan secara teratur dapat digunakan untuk identifikasi, pemisahan, kuantifikasi pigmen alam termasuk kurkumin⁹. Berdasarkan penelitian Gantait *et al* (2011) menggunakan metode berbasis kromatografi yang lain yaitu HPTLC, melaporkan bahwa metode tersebut merupakan metode yang akurat, sederhana, *cost effective*, dan sensitive untuk mengestimasi kurkumin secara kuantitatif¹⁰.

Pada penelitian ini akan dilakukan penetapan kadar kurkuminoid dalam ekstrak campuran rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val.*) dan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) secara KLT-densitometri. Sebelum dilakukan penetapan kadar kurkuminoid pada ekstrak campuran rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val.*) dan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) terlebih dahulu di lakukan validasi metode dengan parameter selektivitas, linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi, akurasi, dan presisi.

2. Metode

2.1 Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian yaitu rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val.*) dan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) dari Materia Medika. Masing-masing rimpang kunyit dan temulawak dicuci bersih dan dipotong kecil-kecil dengan ukuran tertentu untuk mempermudah proses pengeringan. Pengeringan rimpang kunyit dan temulawak pada suhu 25°C. Selanjutnya didapatkan simplisia dan simplisia tersebut diperkecil ukuran partikelnya dengan cara di blender sehingga menghasilkan serbuk halus.

Masing – masing simplisia ditimbang kurang lebih 10 gram direndam dalam 100ml etanol 96%, kemudian dilakukan sonikasi selama 10 menit pada frekuensi 20 kHz. Setelah proses sonikasi, dipisahkan antara filtrat dan residu dengan cara penyaringan. Proses ini diulang sebanyak 3 kali kemudian filtrat yang dihasilkan dikumpulkan untuk selanjutnya dipekatkan. Pemekatan ekstrak dilakukan pada suhu 50° C menggunakan *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental¹¹. Bahan uji merupakan campuran ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val.*) dan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) dengan perbandingan 1:1 (b/b).

2.2 Bahan dan Alat

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol pro analisis EMSURE®, kloroform pro analisis EMSURE®, metanol pro analisis EMSURE® dan standar kurkuminoid (SIGMA). Alat-alat yang digunakan adalah densitometer (CAMAG), TLC scanner 4 (CAMAG), TLC-Visualizer 2 (CAMAG), Linomat (CAMAG), plate KLT Silica GF₂₅₄nm (Merck), bejana kromatografi, timbangan digital analitik, *water bath*, mikropipet, *beaker glass*, pipet volume, vial, alat penotol noda, labu ukur, corong, cawan porselin, batang pengaduk dan kertas saring.

2.3 Preparasi Larutan Baku dan Kurva Kalibrasi

Larutan baku induk dibuat dari 10,0 mg standar kurkuminoid yang dilarutkan dalam etanol p.a ad 10,0 ml. Kemudian dari larutan baku induk tersebut dibuat larutan baku kerja untuk kurva kalibrasi dengan berbagai konsentrasi : 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 800 ppm.

2.4 Preparasi Sampel

Ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) ditimbang sebanyak 3 kali dengan perbandingan 1:1 (b/b). Masing-masing campuran ekstrak yang telah ditimbang tersebut (sampel 1a = 40,0, 1b = 40,3, dan 1c = 40,8) dilarutkan dalam etanol sampai 10,0 ml kemudian disonikasi selama 10 menit pada frekuensi 20 kHz.

2.5 Penetapan Kadar Kurkuminoid

Penetapan kadar kurkuminoid dalam sampel dilakukan pada 3 penimbangan yang berbeda (sampel 1a = 40,4, 1b = 40,3, dan 1c = 40,8) dan masing-masing dilakukan 3 kali replikasi, kemudian dari hasil yang diperoleh dirata-rata untuk mendapatkan kadar kurkuminoid dalam sampel secara akurat. Penyiapan sampel yang dilakukan adalah dengan menimbang masing-masing sampel selanjutnya dilarutkan dengan etanol p.a sampai 10,0 ml kemudian dihomogenkan dengan cara disonikasi selama 5 menit.

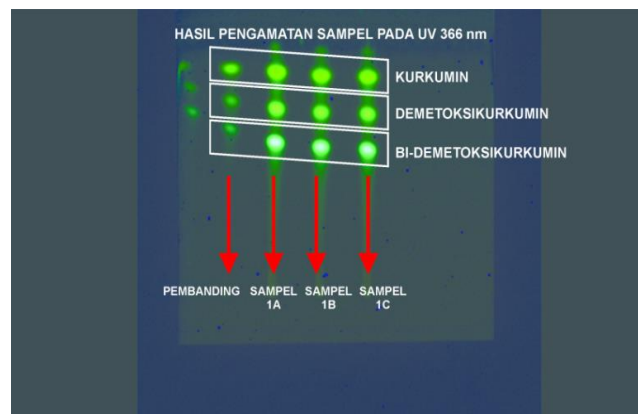
Masing-masing sebanyak 2,0 µl larutan pembanding dan larutan sampel ditotolkan pada plat KLT menggunakan Linomat (CAMAG). Fase gerak yang digunakan adalah campuran kloroform-metanol dengan perbandingan (9:1, v/v) ⁽¹²⁾. Plat KLT dieluasi didalam chamber yang telah jenuh dengan fase gerak, sampai batas eluasi tercapai. Setelah dilakukan eluasi, plat KLT dikeringkan kemudian noda pada plat KLT diamati dengan TLC-Visualizer pada sinar UV 366 nm selanjutnya dibaca dengan densitometer.

3. Hasil dan Diskusi

3.1. Uji Kualitatif Kurkuminoid

Kurkuminoid yang telah terpisah dari senyawa-senyawa lain dalam sampel ditunjukkan oleh adanya noda pada plat KLT (silika gel 60 F254) setelah dieluasi dengan fase gerak kloroform-metanol (9:1). Eluen atau fase gerak

yang dipilih berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Nurani (2007). Kloroform-metanol dengan perbandingan 9:1 mampu memisahkan kurkumin, demetoksikurkumin, dan bisdemetoksikurkumin dengan baik ⁽¹²⁾. Kemudian pengamatan noda dilakukan dengan TLC-Visualizer sinar UV 366 nm (Gambar 1). Nilai Rf kurkuminoid dalam sampel dan dalam larutan pembanding ditunjukkan pada Tabel 1.



Gambar 1. Hasil TLC-Visualizer pada sinar UV 366 nm

Tabel 1. Nilai Rf kurkuminoid dalam sampel dan dalam larutan pembanding

Noda	Rf Kurkumin	Rf Demetoksi-kurkumin	Rf bisdemetoksi-kurkumin
Standar kurkuminoid	0,84	0,69	0,57
Sampel 1 a	0,84	0,69	0,57
Sampel 1 b	0,84	0,68	0,55
Sampel 1 c	0,82	0,68	0,55

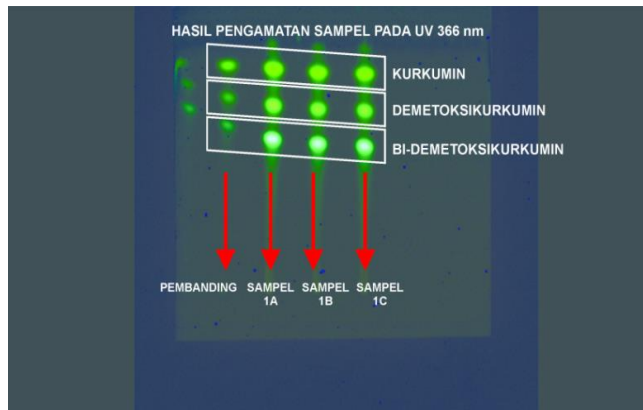
Penetapan panjang gelombang maksimum kurkuminoid dilakukan agar didapatkan panjang gelombang maksimum dimana kurkuminoid memberikan respon yang maksimum. Berdasarkan gambar 2 dapat diketahui bahwa kurkuminoid memberikan serapan (λ) maksimum pada panjang gelombang 421 nm. Selanjutnya dibandingkan profil densitometri antara standar kurkuminoid dan ekstrak campuran kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Berdasarkan gambar 3 terlihat profil yang sama antara standar kurkuminoid pada λ maksimum 421 nm

4. Hasil dan Diskusi

4.1. Uji Kualitatif Kurkuminoid

Kurkuminoid yang telah terpisah dari senyawa-senyawa lain dalam sampel ditunjukkan oleh adanya noda pada plat KLT (silika gel 60 F254) setelah dieluasi dengan fase gerak kloroform-metanol (9:1). Eluen atau fase gerak yang dipilih berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Nurani (2007). Kloroform-metanol dengan

perbandingan 9:1 mampu memisahkan kurkumin, demetoksikurkumin, dan bisdemetoksikurkumin dengan baik ⁽¹²⁾. Kemudian pengamatan noda dilakukan dengan TLC-Visualizer sinar UV 366 nm (Gambar 1). Nilai Rf kurkuminoid dalam sampel dan dalam larutan perbandingan ditunjukkan pada Tabel 1.

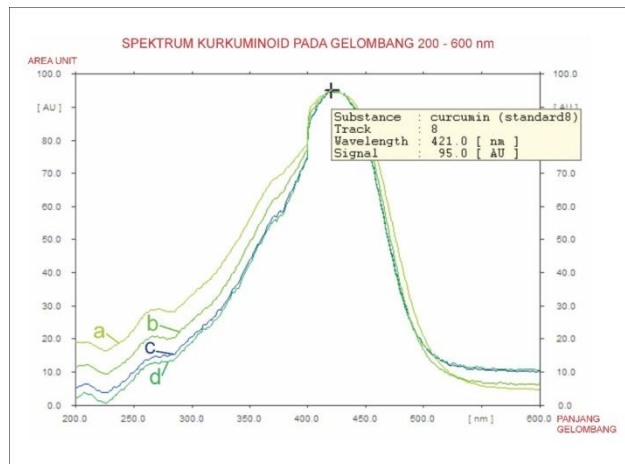


Gambar 1. Hasil TLC-Visualizer pada sinar UV 366 nm

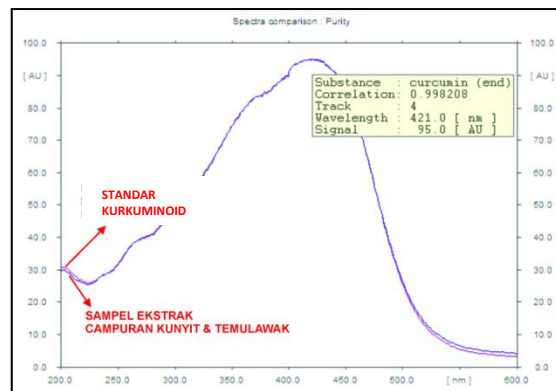
Tabel 1. Nilai Rf kurkuminoid dalam sampel dan dalam larutan perbandingan

Noda	Rf Kurkumin	Rf Demetoksi-kurkumin	Rf bisdemetoksi-kurkumin
Standar kurkuminoid	0,84	0,69	0,57
Sampel 1 a	0,84	0,69	0,57
Sampel 1 b	0,84	0,68	0,55
Sampel 1 c	0,82	0,68	0,55

Penetapan panjang gelombang maksimum kurkuminoid dilakukan agar didapatkan panjang gelombang maksimum dimana kurkuminoid memberikan respon yang maksimum. Berdasarkan gambar 2 dapat diketahui bahwa kurkuminoid memberikan serapan (λ) maksimum pada panjang gelombang 421 nm. Selanjutnya dibandingkan profil densitometri antara standar kurkuminoid dan ekstrak campuran kunyit (*Curcuma domestica Val.*) dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*). Berdasarkan gambar 3 terlihat profil yang sama antara standar kurkuminoid pada λ maksimum 421 nm.



Gambar 2. Spektrum kurkuminoid pada panjang gelombang 200-600 nm (Keterangan : a, b, c, d = konsentrasi baku kurkuminoid)



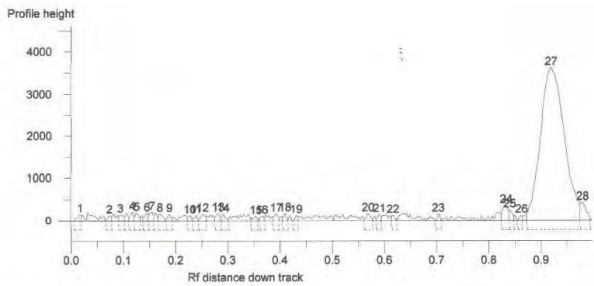
Gambar 3. Profilspektra dari standar kurkuminoid dan ekstrak campuran kunyit + temulawak pada panjang gelombang 421 nm

4.2. Validasi Metode

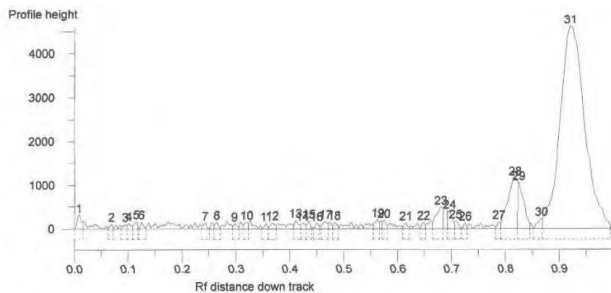
Sebelum dilakukan penetapan kadar kurkuminoid terlebih dahulu dilakukan validasi metode dengan parameter selektivitas, linearitas, akurasi, presisi, LOD dan LOQ. Parameter dari selektivitas adalah resolusi, dimana suatu metode dikatakan memiliki selektivitas yang baik apabila memiliki nilai resolusi ≥ 2 ¹³. Hasil resolusi antara baku dengan sampel ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil resolusi (Rs) pada standar kurkuminoid dan ekstrak campuran kunyit dan temulawak

Analit	Resolusi (Rs)
Standar kurkuminoid	1,5
Ekstrak campuran kunyit dan temulawak	2

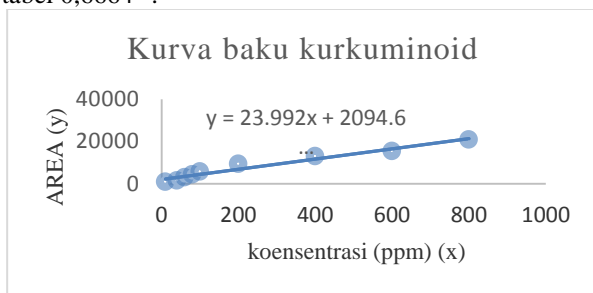


Gambar 4. Kromatogram standar kurkuminoid.



Gambar 5. Kromatogram Ekstrak campuran kunyit dan temulawak.

Penentuan linieritas dilakukan untuk menunjukkan adanya hubungan linier antara kadar senyawa yang diukur dengan luas area. Pada penelitian ini digunakan 6 titik seri kadar kurva baku yaitu dengan rentang konsentrasi 10-800 ppm. Peningkatan kadar sebanding dengan kenaikan luas area, sehingga terbentuk hubungan yang proporsional dengan korelasi yang baik¹³. Persamaan kurva baku yang diperoleh ditunjukkan pada gambar 4 dengan nilai r hitung = 0,9803. Nilai r hitung yang diperoleh dibandingkan dengan nilai r tabel untuk mengetahui validitas linieritas. Apabila lebih besar dari r tabel maka nilai r hitung cukup valid. Berdasarkan hasil perhitungan, diketahui bahwa nilai r hitung lebih besar dari r tabel 0,6664¹⁴.



Gambar 6. Kurva baku kurkuminoid.

Penentuan LOD dan LOQ dari sampel bertujuan untuk menentukan jumlah analit terkecil yang masih terdeteksi dan jumlah analit terkecil yang masih dapat ditentukan dengan akurasi dan presisi tertentu. LOD dan LOQ dapat dihitung secara statistik melalui persamaan garis regresi linier dari kurva baku dengan konsentrasi 20-50 ppm, dengan rumus :

$$Sy/x = \sqrt{\frac{\sum (y-\bar{y})^2}{n-2}} \quad LOD = 3 \frac{Sy/x}{b} \quad LOQ = 10 \frac{Sy/x}{b}$$

Hasil yang diperoleh untuk LOD dan LOQ berturut-turut adalah 4,31 ppm dan 14,37 ppm.

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai % *recovery* (persen perolehan kembali) yang ditentukan dengan cara mengukur tiga seri konsentrasi (masing-masing tiga replikasi). Pada penelitian ini menggunakan metode penambahan standar zat aktif (*standard addition method*)¹³. Standar kurkuminoid yang ditambahkan adalah 25 ppm, 35 ppm dan 40 ppm. Berdasarkan AOAC, persyaratan % *recovery* untuk kadar 100 ppm adalah 90-107%^{15,16}. Pada penelitian ini rata-rata % *recovery* yang diperoleh adalah 89,00% - 97,35%.

Presisi dinyatakan dengan harga koefisien variasi (KV) atau simpangan baku relative (RSD). Berdasarkan AOAC, kriteria keberterimaan RSD tergantung pada kadar analit, untuk kadar 100 ppm nilai RSD < 5,3%^{15,16}. Pada penelitian ini hasil presisi yang didapatkan dari kadar 25 ppm, 35 ppm dan 40 ppm yaitu sebesar 4,55%.

Berdasarkan hasil perhitungan parameter validasi, maka dapat dikatakan bahwa metode yang digunakan telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan, sehingga metode tersebut dapat digunakan untuk penetapan kadar kurkuminoid dalam ekstrak campuran kunyit dan temulawak.

4.3. Penetapan Kadar Kurkuminoid

Pada penetapan kadar kurkuminoid dalam sampel, dilakukan 9 kali replikasi, yaitu 3 kali replikasi untuk masing-masing penimbangan sampel. Penentuan kadar kurkuminoid pada sampel dilakukan dengan memasukan nilai luas area kedalam persamaan kurva baku 10-800 ppm.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Akurasi dan Presisi

Bobot Matriks (mg)	Kadar baku yang di-tambahkan (ppm)	Area Total (Baku + matriks)	Area Matriks	% Recovery	Rata-rata % Recovery	
40,4 mg	25 ppm	13470,47	13058,06	93,12%	97,35%	\bar{X} = 93,68%
		13492,07		95,54%		
		13561,85		103,38%		
40,3 mg	35 ppm	13987,73	13022,72	110,84%	94,70%	SD = 4,2668
		13869,77		101,39%		
		13501,78		71,86%		
40,8 mg	40 ppm	13893,97	13199,41	78,01%	89,00%	KV = 4,55%
		14153,86		96,25%		
		14104,01		92,75%		

5. Daftar Pustaka

1. Badan Litbang Kesehatan. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2010. Jakarta: Balitbangkes; 2010.
2. Aditama, T. Y. Jamu & Kesehatan Edisi II. Jakarta: Lembaga Penerbit Balitbangkes; 2015.
3. Siswanto. Saintifikasi Jamu Sebagai Upaya Terobosan Untuk Mendapatkan Bukti Ilmiah Tentang Manfaat dan Keamanan Jamu. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*. 2012; 15(2): 203–211.
4. Pothitirat, W. and Gritsanapan, W. Quantitative Analysis of Curcumin, Demethoxycurcumin and Bisdemethoxycurcumin in the Crude Curcuminoid Extract from *Curcuma longa* in Thailand by TLC Densitometry. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2005; 32(1-2):23-30.
5. Ashraf and Sultan. A comprehensive review on *Curcuma longa* Linn.: Phytochemical, pharmacological, and molecular study. *International Journal of Green Pharmacy*. 2017; 11(4).
6. Rafi, M., Rohaeti, E., Miftahudin, A., Darusman, L.K. Differentiation Of *Curcuma longa*, *Curcuma xanthorrhiza* and *Zingiber cassumunar* By Thin Layer Chromatography Fingerprint Analysis. *Indonesian Journal of Chemistry*, 2010; 71-74.
7. Hanwar, D., Aisyah, S., Suhendi, A. Validasi Metode KLT-Densitometri untuk Penetapan Kadar Kurkumin pada Produk Obat Herbal Berbasis *Curcuma* sp. In *Proceeding :University Research Colloquium*, 2018.
8. Rohman, A. Analysis of Curcuminoids in Food and Pharmaceutical Products. *International Food Research Journal*. 2012; 19 (1):19-27.
9. Forgacs, E. Cserhati, T. Thin-Layer Chromatography of Natural Pigments: New Advances. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 2002; 25(10-11):1521–1541.
10. Gantait, A. Barman, T. Mukherjee, P.K. (2011). Validated Method for Estimation of Curcumin in Turmeric Powder. *Indian J Traditional Knowledge*. 2011; 10: 247-250
11. Raditya, W. N. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang *Curcuma domestica* Dari Berbagai Daerah Terhadap *Bacillus cereus* dan *Klebsiella pneumoniae*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga; 2012.
12. Nurani, A. Penetapan Kadar Andrografolida dan Kurkumin Dalam Ekstrak Campuran Herba Sambiloto dan Rimpang Kunyit Dengan Metode KLT-Densitometri. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga; 2007.
13. Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2004; 1(3).
14. Siregar, S. Statistik Parametrik untuk Penelitian Kuantitatif. Jakarta: Bumi Aksra; 2017.
15. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. In: George W. Latimer J, editor. *Guidelines for Standard Method Performance Requirements*. 19th ed. Gaithersburg, Maryland, USA: AOAC International; 2012.
16. Badan Litbang Kesehatan. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2010. Jakarta: Balitbangkes; 2010.
17. Aditama, T. Y. Jamu & Kesehatan Edisi II. Jakarta: Lembaga Penerbit Balitbangkes; 2015.
18. Siswanto. Saintifikasi Jamu Sebagai Upaya Terobosan Untuk Mendapatkan Bukti Ilmiah Tentang Manfaat dan Keamanan Jamu. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*. 2012; 15(2): 203–211.
19. Pothitirat, W. and Gritsanapan, W. Quantitative Analysis of Curcumin, Demethoxycurcumin and Bisdemethoxycurcumin in the Crude Curcuminoid Extract from *Curcuma longa* in Thailand by TLC Densitometry. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2005; 32(1-2):23-30.
20. Ashraf and Sultan. A comprehensive review on *Curcuma longa* Linn.: Phytochemical, pharmacological, and molecular study. *International Journal of Green Pharmacy*. 2017; 11(4).
21. Rafi, M., Rohaeti, E., Miftahudin, A., Darusman, L.K. Differentiation Of *Curcuma longa*, *Curcuma xanthorrhiza* and *Zingiber cassumunar* By Thin Layer Chromatography Fingerprint Analysis. *Indonesian Journal of Chemistry*, 2010; 71-74.
22. Hanwar, D., Aisyah, S., Suhendi, A. Validasi Metode KLT-Densitometri untuk Penetapan Kadar Kurkumin pada Produk Obat Herbal Berbasis *Curcuma* sp. In *Proceeding :University Research Colloquium*, 2018.
23. Rohman, A. Analysis of Curcuminoids in Food and Pharmaceutical Products. *International Food Research Journal*. 2012; 19 (1):19-27.
24. Forgacs, E. Cserhati, T. Thin-Layer Chromatography of Natural Pigments: New Advances. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 2002; 25(10-11):1521–1541.
25. Gantait, A. Barman, T. Mukherjee, P.K. (2011). Validated Method for Estimation of Curcumin in Turmeric Powder. *Indian J Traditional Knowledge*. 2011; 10: 247-250
26. Raditya, W. N. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang *Curcuma domestica* Dari Berbagai Daerah Terhadap *Bacillus cereus* dan *Klebsiella pneumoniae*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga; 2012.
27. Nurani, A. Penetapan Kadar Andrografolida dan Kurkumin Dalam Ekstrak Campuran Herba Sambiloto dan Rimpang Kunyit Dengan Metode KLT-Densitometri. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga; 2007.
28. Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2004; 1(3).
29. Siregar, S. Statistik Parametrik untuk Penelitian Kuantitatif. Jakarta: Bumi Aksra; 2017.
30. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. In: George W. Latimer J, editor. *Guidelines for Standard Method Performance Requirements*. 19th ed. Gaithersburg, Maryland, USA: AOAC International; 2012.
31. Ferenczi-Fodor, K. Vigh, Z. Nagy-Turak, A. Validation and Quality Assurance of Planar Chromatographic Procedures in Pharmaceutical Analysis. *Journal of AOAC International*. 2001; 84(4):1270-1271.